

Die Wirkung von Natriumcitrat und Heparin auf die Bakterienphagocytose menschlicher Leukocyten in vitro und in vivo

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

1956

vorgelegt von
Margot Sigrist
aus Winterthur

Basel 1956
König 1963



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548804_0085

DIE WIRKUNG VON NATRIUMCITRAT UND
HEPARIN AUF DIE BAKTERIENPHAGOCYTOSE
MENSCHLICHER LEUKOCYTEN IN VITRO UND
IN VIVO.



I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

M A R G O T S I G R I S T

aus Winterthur

Köln 1963
Basel 1956

Aus dem Gewebezüchtungslaboratorium der chirurgischen
Universitätsklinik Basel. Arbeit unter Leitung von
PD. Dr. M a r t i n A l l g ö w e r

Von der Medizinischen Fakultät genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. Rudolph N i s s e n 5. Juni 1956

Tag der Promotion:

DIE WIRKUNG VON NATRIUMCITRAT UND HEPARIN AUF DIE BAKTERIEN- PHAGOCYTOSE MENSCHLICHER LEUKOCYTEN IN VITRO UND IN VIVO

I EINLEITUNG

Die Beseitigung der in den Körper eingedrungenen Infektionserreger geschieht durch die Bakterienphagocytose der polynukleären Leucocyten. Antibiotica und Chemotherapeutica erleichtern die Phagocytose durch ihre bakteriostatische Wirkung, machen sie aber keinesfalls überflüssig. Daher bedeutet jedes Pharmakon, das die Phagocytose beeinträchtigt, eine potentielle Gefahr und verlangt Vorsicht im Gebrauch.

Seit 1909 ist bekannt, dass tribasisches Natriumcitrat die Phagocytosetätigkeit der Leucocyten herabsetzt (1,2,3,4). 1914 wurde es gleichzeitig von Hustin, Lewis und Agote erstmals zu Frischbluttransfusionen verwendet. 1915 benützte es Weil als erste zur Blutkonservierung.

Natriumcitrat entionisiert das Calcium im Blut und verhindert dadurch die Umwandlung des Prothrombin in Thrombin. Eine Konzentration von 0,25-0,3% im Blut genügt, um die Koagulation zu verhindern. Anfänglich wurden zur Gerinnungsverhütung hochkonzentrierte Citratlösungen verwendet (Mstibovsky 30%, Jeanneney 10%, Inesco, Schürch-Willenegger-Knoll 5% 5). Heute wird blutisotonische Citratlösung benützt, wobei die Angaben über die isotone Konzentration zwischen 2,6-3,8% schwanken. (6). Der Blutspendedienst des schweizerischen Roten Kreuzes verwendet 3,3% Natriumcitrat, wir selbst

in unseren Versuchen wo nichts anderes angegeben ist 3,55% Lösungen.

Im Empfängerblut führt Natriumcitrat nur in ganz seltenen Fällen zu einer Gerinnungshemmung. Dies mag am raschen Abbau des Citrates im Organismus liegen (7). Mayer (8) fand die Blutungs- und Gerinnungszeit nach Transfusionen von 3-5 L Blut bei 15 Patienten nicht verlängert. Bunker et al. (9) fanden sie auf 10 Min. erhöht, ebenfalls Stefanini (10) in vitro. Wir fanden das Blut von 2 Patienten ungerinnbar, einmal nach einer Bluttransfusion von 4 Litern bei einem Patienten mit Leberruptur, das andere Mal nach einer solchen von 400 cc mit experimentell gesteigertem Citratgehalt von 9,3 g. Stefanini et al. machen den Abfall der Thrombocyten im Konservenblut verantwortlich für die erhöhte Blutungsneigung nach grossen Transfusionen.

Natriumcitrat ist um vieler praktischer Vorzüge willen (billiger Preis, einfache Verwendbarkeit, lange Konservenhaltbarkeit) meistens das Konservierungsmittel der Wahl im heutigen Blutspendedienst geblieben. Die schweizerischen Blutspendezentren entnahmen im Jahre 1954 33260 L Blut für Citratkonserven. (11). Es hat aber nie an Stimmen gefehlt, die vor dem Citrat warnten. Besonders in den USA wird an manchen Orten der Decalcifizierungsmethode durch Ionenaustauscher zur Blutkonservierung der Vorzug gegeben. (12, 13, 14, 15). Auch Aufschwemmungen gewaschener Erythrocyten werden aus dem gleichen Grund benützt (16,17). In letzter Zeit haben Bunker et al. (9) erneut auf die Citrattoxizität hingewiesen und betont, dass weniger die absolute als die pro Zeiteinheit verabreichte Menge Natriumcitrat eine Rolle spielt. Dosen bis 0,5 mg Citrat/kg/Min. sollen das ionisierte Calcium im Serum auf Werten über 0,85 mM/l erhalten und Störungen vermeiden, selbst wenn über 3 L Blut transfundiert werden. Wird Na-Citrat rascher verabreicht oder ist durch Insuffizienz der Leberzellen oder Störungen der Leberzirkulation sein Abbau verzögert, so sollen bereits niedrigere Dosen toxisch wirken und zu Blutdruckabfall,

Kollaps, Atemstörungen, tetanischen Krämpfen und Herzstillstand führen. (17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24).

Bisher ist nur der Einfluss des Natriumcitrat auf die Phagocytose der Spenderleucocyten untersucht worden. Dieselbe kann aber bei den Routinetransfusionsmengen vernachlässigt werden. Allgöwer (18, 25) hat darauf hingewiesen, dass bei den heutigen grossen Transfusionsmengen weniger die seit 1909 bekannte Hemmung der Leucocytenphagocytose im Spenderblut, als vielmehr die Rückwirkung auf die Phagocytose der Leucocyten des Empfängers untersucht werden sollte. Er kam auf Grund von Versuchen in vitro und in vivo zu folgenden Resultaten, die alle die Phagocytose eines Stammes von *Escherichia coli* betreffen:

1. tribasisches Natriumcitrat hemmt die Coli-Phagocytose menschlicher Leucocyten in vitro. Die Hemmung beginnt bei ca. 60 mg% und steigert sich entsprechend dem Citratgehalt des Blutes.
2. Zusatz von Calciumchlorid bis zur Recalcifizierung des citrierten Serums vermag die Citrathemmung nicht aufzuheben.
3. Die Phagocytosehemmung kann durch Zusatz von 10 % nativen Serums oder Plasmas rückgängig gemacht werden.
4. i.v. Injektion von 3 g Natriumcitrat kann bei gesunden Versuchspersonen auch in vivo neben Kollapserscheinungen einen gewissen Phagocytoseabfall der polynukleären Leucocyten bewirken.
5. Einige Modelltransfusionen mit citriertem Vollblut (enthaltend 3 g Citrat) verursachten bei einer Patientin in stark reduziertem Allgemeinzustand eine Verminderung der Phagocytose der Empfängerleucocyten. (Vergleiche dazu 26)

Die Untersuchungen Allgöwers betreffen nur ein Bakterium und waren grösstenteils in vitro vorgenommen. Sie liessen keine endgültigen Schlüsse zu. Es bestand daher das Bedürfnis, sie zu ergänzen.

Die Erfahrung, dass Patienten nach schwerem Schock durch Verbrennung oder andere Körperverletzungen sehr oft einige Tage oder Wochen später an septischen Komplikationen sterben, und dass diese Patienten meist massive Citratbluttransfusionen erhalten hatten, liess uns auf Grund der Resultate Allgöwers daran denken, dass dabei die Hemmung der Phagocytose der Empfängerleucocyten durch das Citrat eine Rolle spielen könnte.

Untersuchungen in folgender Richtung erschienen angezeigt:

1. Die Phagocytoseversuche Allgöwers mit Natriumcitrat in vitro wurden wiederholt und neben E. coli auf 2 weitere verbreitete Erreger chirurgischer Infektionen ausgedehnt.
2. Die dabei in vitro gewonnenen eindeutigen Resultate forderten die Prüfung der Leucocytenphagocytose nach Bluttransfusionen unterschiedlichen Citratgehaltes in vivo.
3. Die Beeinflussung der Phagocytose durch Heparin *) in vitro und in vivo wurde mit derjenigen durch Natriumcitrat verglichen.
4. Schliesslich wurde der Einfluss der verschiedenen Serumfraktionen auf die Phagocytosetätigkeit der Leucocyten in vitro untersucht.

*) Heparin wurde uns in Form des Liquemin von der Firma Hoffmann-La Roche in Basel in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt.

II MATERIAL UND TECHNIK

Phagocytoseprüfungen nach Citrat- bzw. Heparinwirkung in vitro.

Gesunden Versuchspersonen wurden 50-100 cc Blut durch Venenpunktion entnommen und im Erlenmeyerkölbchen durch vorsichtiges rotierendes Bewegen ohne Zusatz von Glasperlen innert einiger Minuten defibriniert (nach Wright 1 erfolgt die Phagocytose unbeeinflusst davon, ob die Leucocyten sich in Serum oder in Plasma befinden).

Durch Zusatz von blutisotonischer = 3,55 % Natriumcitratlösung wurden folgende Citratkonzentrationen im defibrinierten Blut hergestellt:

40	mg%
120	"
280	"

bzw. mit Liquemin Roche die Heparinkonzentrationen:

1,25	mg%
5	"
20	"
80	"

Alle in unserer Arbeit erwähnten Konzentrationen sind auf das Blutvolumen bezogen.

Von diesen Gemischen wurden 2,6 cc in kleine Reagenzgläschen von 6 mm Durchmesser und 8 cm Höhe eingefüllt, auf 3 cc mit einer Bakteriensuspension ergänzt, verkorkt und paraffiniert. Unter langsamem Umdrehen wurden die Proben im Blutschrank bei 37° 20 Min. lang incubiert, dann auf Objektträger ausgestrichen, an der Luft getrocknet und am folgenden Tag nach May-Grünwald-Giemsa gefärbt. In jedem Versuch wurden citrat- bzw. heparinfreie Kontrollen mitgeprüft.

Phagocytoseprüfungen nach Citrat- bzw. Heparinwirkung in vivo.

400 cc Blut wurden transfundiert. Die Transfusionsdauer betrug 40 Min. Bei Transfusionen mit gesteigertem Citratgehalt musste sie zuweilen auf 60-80 Min. verlängert werden. Es kamen keine Blutkonserven zur Verwendung, die älter als 24 Std. waren. Blutentnahmen erfolgten aus einer Ellbeugenvene, entfernt von der Transfusionsstelle:

1. Direkt vor der Transfusion (Kontrolle).
2. Direkt nach Beendigung der Transfusion.
3. 1 Std. nach Beendigung der Transfusion.

Die Prüfung der Phagocytose in diesen Blutproben erfolgte entsprechend dem oben dargestellten Vorgehen.

Folgende Transfusionen von Citratblut wurden durchgeführt:

- a) übliche Rot-Kreuz-Bluttransfusion (70 cc 3,3 % Natriumcitrat = 2,31 g in 400 cc Konserve)
- b) 5 g Natriumcitrat in 400 cc Konserve
- c) auf die mutmassliche Blutmenge des Empfängers berechnete Citratmenge von 8,5-12 g Citrat in 400 cc Konserve
- d) grosse Transfusion von mehreren Litern des üblichen Rot-Kreuz-Konservenblutes.

Für die Heparinbluttransfusionen verwendeten wir anfangs pro 100 cc Blut 250E=ca 2 mg Heparin. Bei dieser Dosierung verstopften zuweilen kleinste Blutgerinnsel das ins Schlauchsystem eingeschaltete Sicherheitssieb. Als wir den Heparin Gehalt auf 5 mg pro 100 cc = 20 mg in 400 cc Konserve erhöhten, traten diese Störungen nicht mehr auf. Nach einer solchen Transfusion entstehen

im Empfängerblut Konzentrationen zwischen 0,4 - 0,5 mg% Heparin.

Bakteriensuspension

Drei häufige Besiedler chirurgischer Wunden wurden ausgewählt:

Staphylococcus aureus
Streptococcus haemolyticus
Escherichia coli

2 Platinoesen voll Material einer Schrägagarkultur (Staph.aur. und E. coli) bzw. einer Blutagarkultur (Streptoc.haem.) wurden in 8 cc Zuckerbouillon 24 Std. lang bei 38°C bebrütet, dann mit Ringerlösung 3 mal gewaschen. Das dritte Zentrifugat wurde in 4 cc Ringerlösung aufgewirbelt. Dadurch entstand eine auf die doppelte Bakterienzahl angereicherte Suspension enthaltend ca 2×10^9 Bakterien / cc (für Coli berechnet, vg 18), was bei einer normalen Leukocytenzahl von $6000/\text{mm}^3$ in unseren Versuchen ungefähr einem Angebot von 70 Keimen pro polynukleärem Leukocyt entspricht. (Die Lymphocyten phagocytierten nie, die Monocyten nur ganz vereinzelt). Um stammeseigene Besonderheiten auszuschliessen, wurden von jeder Bakterienart verschiedene Stämme geprüft. Die Resultate entsprachen sich, wenn auch die Phagocytose gegenüber den verschiedenen Stämmen unterschiedlich war. So konnten wir gegen keinen unserer Colistämme eine gleich rege Phagocytose beobachten wie Allgöwer in seinen Versuchen.

Quantitative Phagocytosebestimmung

Kiguchi (27) bezeichnet als Phagocytoseindex das Verhältnis der phagocytierenden Leukocyten zur Gesamtleukocytenzahl. Er beobachtete, dass der Ph.I. in der Citratkonserve innert 3 Tagen auf 0,39, innert 7 Tagen auf null sinkt. Wir zogen die Methode von Allgöwer vor und zählten die Bakterien in den 100

ersten im Gesichtsfeld des Mikroskopes auftretenden neutrophilen Leukocyten aus. Die beiden Zählmethoden ergaben meist übereinstimmende Resultate. Die Methode von Kiguchi ist weniger empfindlich, indem sie die Zahl der phagocytierten Keime pro Phagocyt nicht berücksichtigt, sodass sie in vielen Fällen ungenügende Auskunft gibt. . (Abbildung 1 und 2)

Doppelt ausgeführte und von verschiedenen Personen ausgezählte Versuche erwiesen die Zuverlässigkeit unserer Methode. (Abbildung 3] Nach Allgöwer weist die Phagocytoseaktivität der Leukocyten tageszeitliche Schwankungen auf. (Abbildung 4) Um unsere Transfusionsversuche davon möglichst unbeeinflusst zu lassen, legten wir sie in die Zeit zwischen 9-11 und 16-18 Uhr, in der die Phagocytose einigermaßen konstant bleibt. Alle Patienten waren nüchtern und erhielten während des Versuches weder Nahrung noch Medikamente.

Darstellung und Auswertung der Versuche

a) Citratversuche in vitro:

Die Aufzeichnung der Resultate erfolgte als Punkte in einem linearen Ordinatensystem. Abszisse: Citratgehalt im Blut in mg%, Ordinate: Prozentverhältnis der in diesem Citratblutgemisch stattgehabten Phagocytose zur Phagocytose von 100 Leukocyten der jeweiligen citratfreien Kontrollen.

Das arithmetische Mittel aus den verschiedenen Punkten einer Versuchsreihe wurde als ausgezogene Kurve eingetragen.

b) Heparinversuche in vitro:

Da die geprüften Konzentrationen weiter auseinanderlagen, wurde ein engerer Masstab gewählt als für die Citratversuche, was beim Vergleich der Kurven beachtet werden soll.

c) Citrattransfusionsversuche:

Die vor der Transfusion gefundene Phagocytose wurde gleich 100%

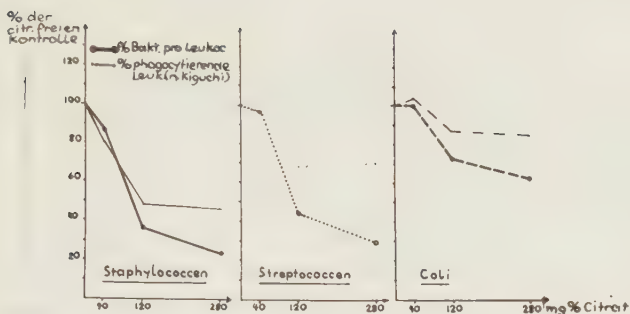


Abb. 1 Derselbe Versuch ausgezählt nach Kiguchi (dünngezogene Linien) und nach unserer Methode (starke Linien): geringere Empfindlichkeit der Methode Kiguchis bei annähernd parallelem Verlauf der Kurven.

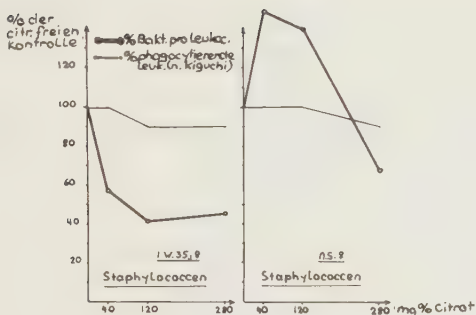


Abb. 2 Zwei Beispiele für die Unzulänglichkeit der Zählmethode Kiguchis: während die Phagocytose tatsächlich um 60% ab- bzw. um 40% zugenommen hat (starkgezogene Linien), bewegt sich die Kurve nach Kiguchi in beiden Fällen um 100%.

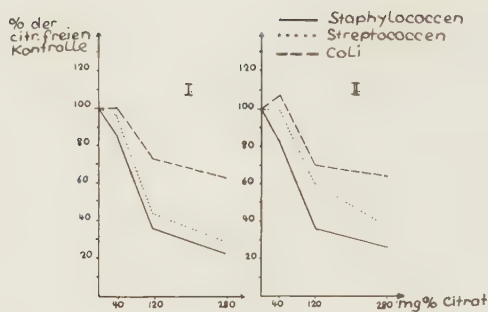


Abb. 3 Derselbe Versuch von zwei verschiedenen Personen ausgeführt und ausgezählt : praktisch gleiche Resultate. Beweis für die Zuverlässigkeit unserer Methode.

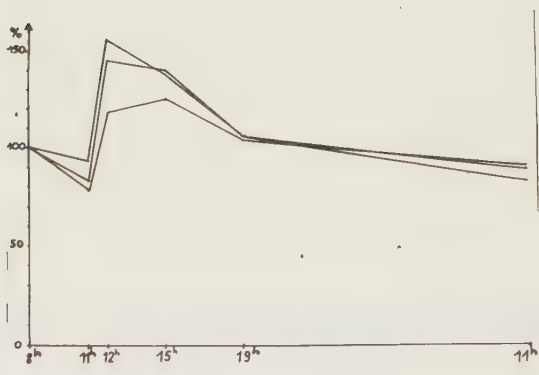


Abb. 4 Die tageszeitlichen Schwankungen der Leukocytenphagocytose, cit. nach Allgöwer.

gesetzt und die Phagocytose sofort und eine Stunde nach Transfusionsschluss dazu ins Verhältnis gesetzt. Im Uebrigen wurden diese Versuche wie diejenigen in vitro aufgezeichnet.

d) Heparintransfusionsversuche:

Vorgehen analog den Citrattransfusionsversuchen.

III ERGEBNISSE

Unter unseren Versuchsbedingungen konnten wir eine sehr rege Phagocytosetätigkeit der neutrophilen Leukocyten gegenüber *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus haemolyticus* beobachten. Sie betrug oft über 1000, selten bis 4000 Keime pro 100 Leukocyten. Einzelwerte bis 190 Keime pro Leukocyt machten die Zählung zuweilen sehr schwierig, sodass wir uns genötigt sahen, in einzelnen Fällen die Bakteriensuspension zu verdünnen, um das Bakterienangebot zu verringern. Umgekehrt mussten wir die Suspension bei mässigem Bakterienwachstum gelegentlich vermehrt anreichern. Im Gegensatz zu Allgöwer fanden wir keine sehr rege Coli-Phagocytose. Sie betrug in keinem Fall mehr als 500 Keime pro 100 Leukocyten, häufig beträchtlich weniger. Die Photographien Abbildung 6-8 sind unseren Versuchen entnommen und zeigen bei 900-facher Vergrößerung je ein Beispiel von Staph.-, Streptoc.- und Coliphagocytose.

In vitro - Versuche mit Na-citrat

(Abbildung 8-10)

40 mg% Na-Citrat beeinflussen die Phagocytose noch nicht wesentlich. 5 Fällen von Abfall unter 60% der citratfreien Kon-



Abb. 5

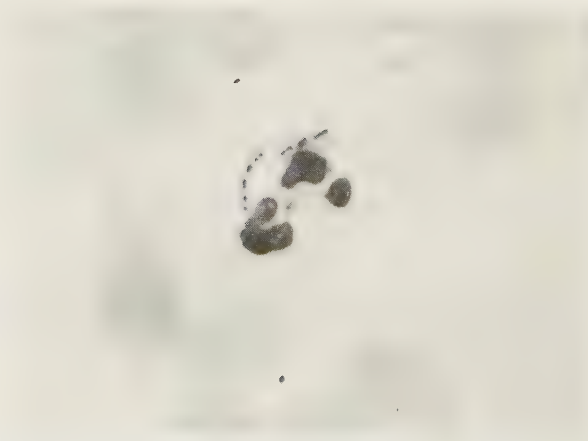


Abb. 6

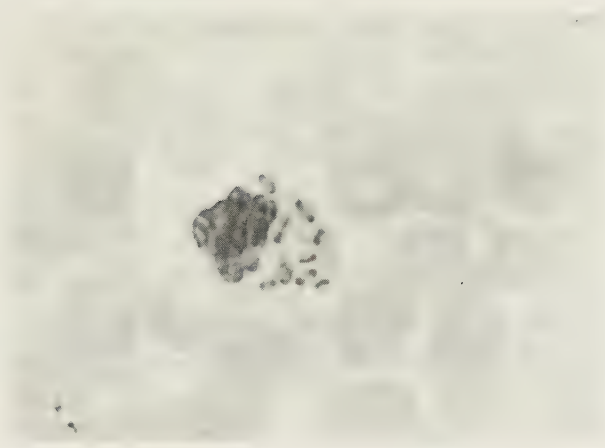


Abb. 7

Abb. 5-7 Neutrophiler Leukocyt in Phagocytose bei 900-facher Vergrößerung

Abb. 5 mit *Staphylococcus aureus*

Abb. 6 mit *Streptococcus haemolyticus*

Abb. 7 mit *Escherichia coli*

trolle stehen 7 mit einer leichten Phagocytosesteigerung gegenüber, sodass die Durchschnittswerte aus je 10 Versuchen nur wenig unter den Kontrollen liegen (wenig unter 90%).

Bei 120 mg% Natriumcitrat ist die Phagocytose bereits in 12 von 30 untersuchten Fällen unter 50% gesunken, in 3 Fällen unter 30%, nur einmal ist eine Steigerung eingetreten.

Bei einer Konzentration von 280 mg% Natriumcitrat beträgt die Phagocytose in keinem der 30 Fälle mehr als 80%, in 18 Fällen weniger als 50%, in 9 Fällen weniger als 30%, in 3 Fällen sogar weniger als 20% der citratfreien Kontrolle.

Die Durchschnittswerte der Coli- und Staphylococcenphagocytose sind fast dieselben, die Streptococcenphagocytose scheint durch Citrat etwas weniger gehemmt. Die Resultate der Versuche sind eindeutig und einheitlich:

Mit steigender Citratkonzentration im Blut sinkt die Phagocytose-tätigkeit der Leukocyten gegen Staph. aur. , Streptoc.haem. und E. coli ab.

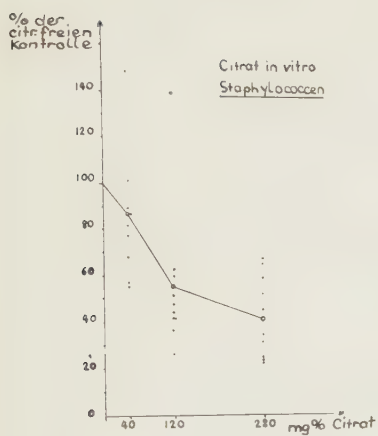


Abb. 8

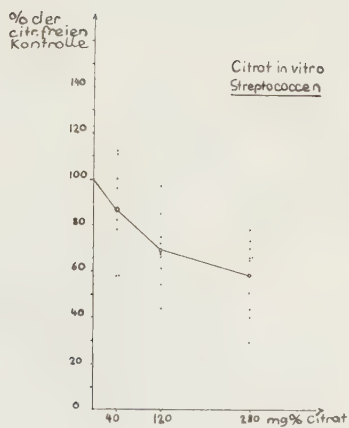


Abb. 9

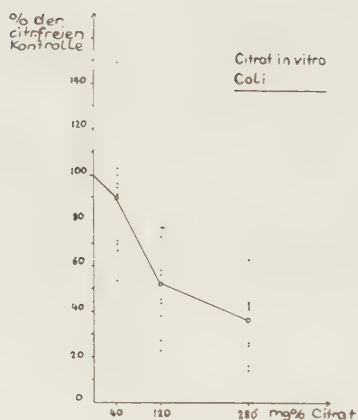


Abb. 10

Abb. 8 - 10 Abfall der Leukocytenphagocytose in vitro unter Einfluss steigender Konzentrationen von tribasischem Natriumcitrat geprüft mit
 Staphylococcus aureus (Abb.8)
 Streptococcus haemolyticus (Abb. 9)
 Escherichia coli (Abb. 10)

Abszisse: Citratkonzentration im Blut

Ordinate: Zahl der phagocytierten Bakterien in % der citratfreien Kontrolle

Die einzelnen Resultate sind als Punkte in einem linearen Koordinatensystem aufgezeichnet.

Ausgezogene Kurve: arithmet. Durchschnitt aus 10 Versuchen.

Transfusionsversuche mit Na-citrat.

Der physiologische Gehalt des Blutes an Citronensäure beträgt nach Natelson et al. (37) ca. 2 mg%. Nach einer Transfusion von 400 cc Konservenblut des schweizerischen Roten-Kreuzes mit einem Citratgehalt von 2,31 g wäre bei einem Empfängerblutvolumen von 4 L theoretisch ein Anstieg der Na-citratkonzentration auf 50 mg% möglich; bei einem Säugling, der gewöhnlich 10-20 cc Blut pro Kg. Körpergewicht erhält, sogar eine Citratblutkonzentration bis 150 mg%. Es ist anzunehmen, dass eine Austauschtransfusion, die beim Neugeborenen mit Erythroblastose ungefähr 94 % des Körperblutes durch Citratblut ersetzt, den Citratgehalt noch wesentlich mehr erhöht. Das gleiche gilt für Transfusionen nach grossen Blutverlusten. Normalerweise wird aber Na-citrat im Organismus mit Hilfe der Citronensäuredehydrase vor allem in der Leber rasch abgebaut (7,27) und durch die Lungen als CO₂ und durch die Nieren als NaHCO₃ ausgeschieden. Immerhin nicht so rasch, dass nicht bei versuchsweise gesteigertem Citratgehalt im Transfusionsblut selbst bei langsamer, tropfenweiser Transfusion häufig Zeichen des Calciummangels, wie Frieren, Zittern, Kribbeln auf der Brust, Atembeklemmung etc. auftreten. Ihr Auftreten schon während der Transfusion und bei Patienten, die Transfusionen mit üblichem Citratgehalt vor- und nachher anstandslos vertrugen, unterschied sie deutlich von den **typischen** "Transfusionsreaktionen". Sie waren auch nie von Urticaria begleitet.

Wie erwähnt, war nach einer Transfusion von 4 Litern Citratblut das Blut eines Patienten mit Leberruptur ungerinnbar. Dieser Patient erhielt insgesamt 6 L Citratblut. Ungerinnbar war auch das Blut einer 45-jährigen Patientin mit Rectumcarcinom ohne Lebermetastasen (Abb. 15). Sie hatte 9,3 g Citrat in 400 cc Konservenblut erhalten. Sie reagierte auf die Transfusion mit Frieren, fibrillären Zuckungen der Wangenmuskulatur und Atembeklemmung, obwohl die Transfusion langsam, d.h. im Verlauf von 80 Min. gegeben wurde. Die Beschwerden verschwanden bald nach Absetzen der Transfusion. Die Phagocytose sank direkt nach der Transfusion auf 62 %, erholte sich aber nach einer Stunde wieder (Staph. aur.).

Wexler et al. (23) fanden nach Austauschtransfusionen beim Neugeborenen Serumcitratwerte bis 120 mg%. Sie waren regelmässig von Tetanie begleitet, die auf Calciumgluconat i.v. verschwand. Mellone und Yahn (24) berichten vom Exitus eines 11 Kg. schweren Kindes unter den Zeichen der Tetanie und Dyspnoe. Das Kind hatte innert 15 Min. 3,6 g Citrat infundiert bekommen.

a) Transfusion von 400 cc Blut enthaltend 2,31 g Na-citrat.

Abb. 11 und 12.

Es wurden 10 Transfusionen mit insgesamt 60 Phagocytosebestimmungen durchgeführt. Nach den Erfahrungen in vitro war nach diesen Transfusionen, die der üblichen Mischung der Blutspendezentren des schweizerischen Roten-Kreuzes entsprechen, nicht mit einer starken Beeinflussung der Phagocytose zu rechnen, da die Citratkonzentrationen im Empfänger selbst bei gestörtem Citratabbau nicht oder nur knapp in den schädigenden Bereich kommen.

Dementsprechend fanden wir die Phagocytose in 24 von 60 Untersuchungen wenig beeinflusst, d.h. zwischen 80 und 120 % der Kontrolle vor der Transfusion und desgleichen die Kurven der arithmetischen Durchschnitte in allen Fällen um 100 % herum verlaufend. Ueberraschend waren die Ausnahmen von der Regel, die nach beiden Seiten recht beträchtliche Ausschläge ergaben. So fand in 15 Fällen eine Phagocytosehemmung unter 75 % und in 16 eine Phagocytosesteigerung über 125 % statt. Unter 66 % phagocytierten 11 der 60 Fälle, über 133 % 14 Fälle. In 2 Fällen fanden wir die Phagocytose unter 50 % der Kontrolle, in 3 Fällen war sie über 200 % gestiegen. Als tiefsten Wert fanden wir 24 %, als höchsten 220 %. Neben den Gesamtergebnissen und den daraus sich ergebenden Durch-

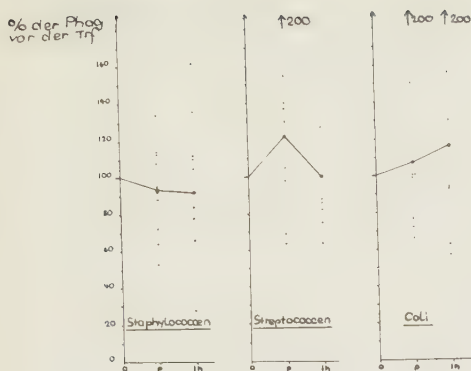


Abb. 11 Transfusion von 400 cc Blut enthaltend 70 cc 3,3% = 2,31 Natriumcitrat. Phagocytose von Staph. aur., Streptoc. haem und E. coli. Einzelresultate und Durchschnittskurven aus 10 Transfusionen

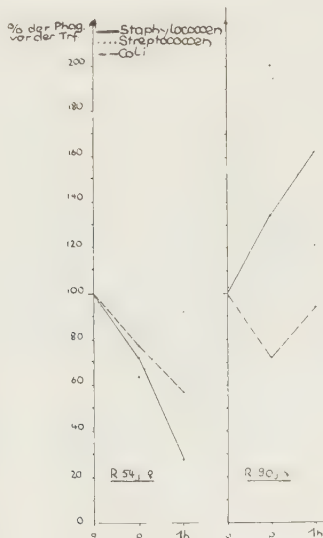


Abb. 12

Je ein Fall von Hemmung bzw. von Förderung der Phagocytose aus der Versuchsreihe der Abb. 11

schnitten ist je ein Einzelfall starker Beeinträchtigung und ein solcher starker Förderung der Phagocytose aufgezeichnet.

b) Transfusion von 400 cc Blut enthaltend 5 g Na-citrat.

Abb. 13 und 14.

Nach den Ergebnissen der üblichen Rot-Kreuz-Transfusion interessierte das Verhalten der Phagocytose bei vermehrtem Citratgehalt in der Konserve.

Allgöwer (18) erwähnte einen Zwischenfall nach i.V. Verabreichung grösserer Mengen von Na-citrat. Wir erhöhten den Na-citratgehalt vorerst auf 5 g (in blutisotonischer Lösung) und führten damit 5 Transfusionen durch. Abb. 13 und 14 zeigen die Gesamtergebnisse und Durchschnittskurven aus den 5 Versuchen und je einen Einzelfall starker Hemmung und starker Förderung der Phagocytose.

Die Zahl dieser Versuche ist zu klein, als dass ein massgebendes arithmetisches Mittel erhoben werden könnte. Immerhin kann auch in diesen Fällen nicht von einer eindeutigen Phagocytosehemmung gesprochen werden. 10 von 30 Untersuchungen bewegen sich zwischen 80 und 120 % der citratfreien Kontrolle. Extremwerte sind wieder: ein Fall unter 50 %, 2 Fälle über 200 %.

Die Transfusionen wurden gut vertragen, vereinzelt trat während der Transfusion und bis 30 Min. nachher etwas Frösteln und Kribbeln auf der Zunge und Brust auf. Die Beschwerden verschwanden innert kurzer Zeit spontan.

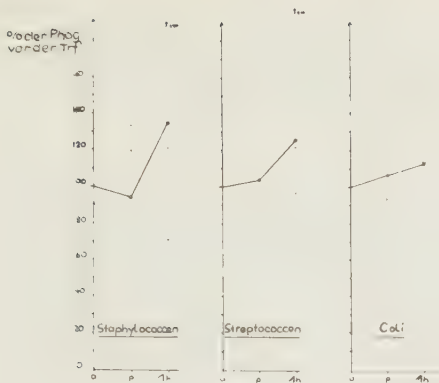


Abb. 13

Transfusion von 400 cc Blut enthaltend 5 g Natriumcitrat.
Phagocytose von Staph. aur., Streptoc. haem. und E. coli
Einzelresultate und Durchschnittskurven aus 5 Transfusionen.

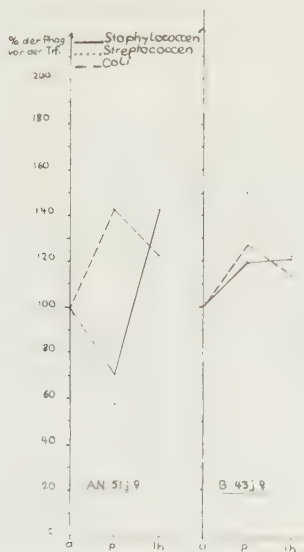


Abb. 14

Je ein Fall von Hemmung bzw. von
Förderung der Phagocytose aus der
Versuchsreihe der Abb. 13

c) Transfusion von 400 cc Blut enthaltend 8,5-12 g Na-citrat.

Abb. 15 und 16.

Nachdem 5 g Na-citrat von allen Patienten gut vertragen worden waren, steigerten wir bei 10 Transfusionen den Citratgehalt im Transfusionsblut entsprechend der mutmasslichen Blutmenge des Empfängers ($1/12$ des Körpergewichtes). Pro 1000 cc Empfängerblut wurden 2,2 g Na-citrat verabreicht. Um das Blut nicht übermässig zu verdünnen, mussten wir in diesen Fällen auf eine 10 %ige, d.h. stark hypertone Citratlösung greifen, die früher allgemein bei Bluttransfusionen verwendet worden ist, heute aber zu Gunsten der blutisotonischen meistenorts verlassen ist. Auf diese Citratmengen reagierten die meisten Patienten mit Frösteln, Unruhe, Beklemmungsgefühl auf der Brust, sogar mit fibrillären Zuckungen der Wangenmuskulatur, sodass wir uns genötigt sahen, die Transfusionszeit von 40 auf 60-80 Min. zu verlängern. In einem Fall musste die Transfusion kurz vor Schluss abgebrochen werden. Die Symptome verschwanden innert 10-40 Min. nach Schluss der Transfusion ohne Therapie.

Bei 220 mg% Citratgehalt im Blut erfolgt in vitro ein starker Abfall der Phagocytose (vgl. Abb. 8-10). In vivo betrug sie in 31 von 60 Fällen 80-120 % der citratfreien Kontrolle und dementsprechend verläuft die arithmetische Mittelkurve praktisch als Gerade durch 100 %. Unter 75 % gesunken ist die Phagocytose in 12, über 125 % gestiegen in 10 von 60 Fällen. Unter 66 % in 8, über 133 % in 9 Fällen. In 3 Fällen von 60 sank sie unter 50 %, in einem Fall stieg sie über das Doppelte, nämlich auf 280 %. Unter den Extremfällen ist, wie schon bei den gewöhnlichen Rot-Kreuz-Bluttransfusionen, derjenige mit Verbesserung der Phagocytose weit eindrucklicher, als derjenige mit Verschlechterung.

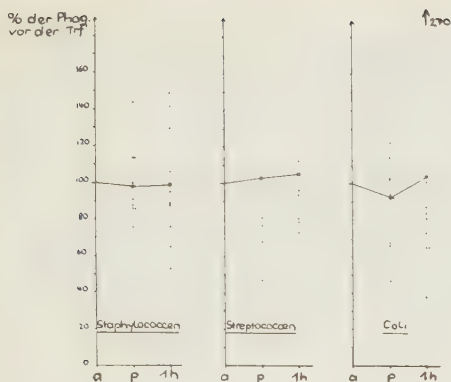


Abb. 15 Transfusion von 400 cc Blut enthaltend soviel Natriumcitrat, dass im Empfänger eine blutkonzentration von 220 mg% Citrat entstehen könnte, d.h. 9 - 11 g Natriumcitrat pro 400 cc Blut. Phagocytose von Staph. aur., Streptoc. haem. und E.coli. Einzelresultate und Durchschnittskurven aus 10 Transfusionen.

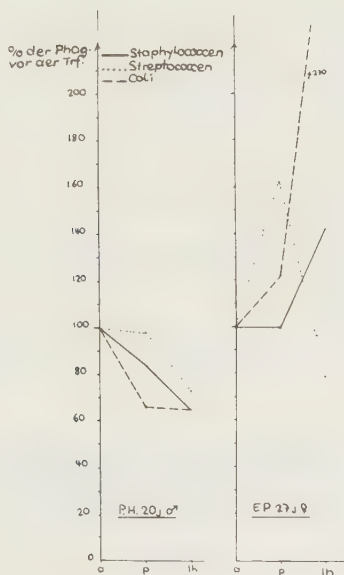


Abb. 16

Je ein Fall von Hemmung bzw. von Förderung der Phagocytose aus der Versuchsreihe der Abb. 15

Auch eine Steigerung des Na-citratgehaltes im Transfusionsblut auf Höchstwerte vermag also in vivo die Phagocytose in den meisten Fällen nicht zu beeinträchtigen.

Nachfolgend eine tabellarische Zusammenstellung der Resultate aller drei Arten von Citratbluttransfusionen, aus der hervorgeht, dass die Veränderung der Phagocytose nach der Transfusion unabhängig vom Citratgehalt im Sinne einer Gauss'schen Verteilungskurve erfolgt (Abb. 17).

Anzahl Untersuch.	60	30	60
Phagocytose in %	2,31 g Na-citr. Rotkreuzkonserve	5 g Na-citr.	8,5-12 g Na-citr.
über 200 %	3	2	1
über 133 %	14		9
über 125 %	16		10
80 - 120 %	24	10	31
unter 75 %	15		12
unter 66 %	11		8
unter 50 %	2	1	3

Abb. 17 Tabellarische Zusammenstellung aller Resultate der drei Citrat-Transfusionsreihen.

In den insgesamt 25 Citrattransfusionsversuchen sank die Phagocytose bei 7 von 25 Patienten gegenüber mindestens einer der drei Bakterienarten unter Citrateinwirkung unter die Hälfte ab. Die Phagocytose gegenüber den drei geprüften Bakterien verlief nicht bei allen Patienten gleichsinnig. Wie Allgöwer und Bloch (28), beobachteten wir mehrfach, dass die Leucocyten von Patienten mit manifester Infektion diejenige Bakterienart, durch die sie selbst befallen waren, am schlechtesten phagocytierten und die grösste Citrathemmung aufwiesen.

H e p a r i n v e r s u c h e .

Nach Ehlert (30) steht die Bactericidie von konserviertem Blut in Abhängigkeit vom Stabilisator. Es handelt sich dabei nicht um eine direkte Wirkung des Stabilisators auf das Bakterienwachstum, sondern anscheinend um eine Veränderung des Blutes durch den Stabilisator. Diese Meinung wird von Jeanney (31) bestritten. Nach Bodarenko und Zaeva soll dem Konservenblut gar keine Bactericidie mehr innewohnen (cit. nach Schürch). Hutten (4) fand, dass von verschiedenen Stabilisatoren das Heparin die Bactericidie des Konservenblutes am wenigsten beeinträchtigt. Es scheint die Wanderung und die Phagocytose der Leucocyten selbst bei hoher Dosierung kaum zu hemmen, in niedriger Dosierung sogar zu fördern (18, 28, 29, 30, 33, 35).

In der Thrombose- und Embolietherapie erreicht die Konzentration des Heparins im Blut 6 mg%. Diese Konzentration wurde erst durch eine Transfusion von 6 L Heparinblut erreicht. Heparin wird normalerweise innert 4 Std. zum grössten Teil durch die Nieren ausgeschieden. Reste davon sind noch nach 48 Std. im Urin nachweisbar. Die Leber soll eine Heparinase enthalten (34).

In vitro - Versuche mit Heparin.

Abb. 18-20).

Analog den in vitro-Versuchen mit Na-citrat wurden 10 Phagocytoseversuche mit 4 verschiedenen hohen Heparinkonzentrationen in vitro durchgeführt. Die untersuchten Konzentrationen waren

1,25 mg%	Heparin
5,0	" "
20,0	" "
80,0	" "

Die geprüften Konzentrationen wurden mit Absicht in geometrischer Progression variiert und liegen teilweise weit über den therapeutisch notwendigen Dosen.

Bei 1,25 mg% Heparin, einer Konzentration, wie sie durch eine Transfusion von 1 Liter Heparinblut à 5 mg/100 cc eben noch erreicht werden kann, fanden wir in mehr als der Hälfte der Fälle, nämlich in 15 von 29 Untersuchungen, eine Förderung der Phagocytose, im Maximum auf 176 %. Nur in 5 von den 29 Untersuchungen war sie unter 75 % abgesunken, davon nur in einem Fall unter 66 %.

5 mg% Heparin liegen an der oberen Grenze der in der Therapie von Embolie und Thrombose erreichten Blutkonzentrationen. Hier fanden wir in 11 von den 29 Untersuchungen eine Phagocytoseförderung. Unter 75 % sank die Phagocytose in 9, unter 66 % in 5 Fällen. Der geringste Phagocytosewert betrug 39 %, der beste 154 % der Kontrollen.

20 mg% Heparin: in 5 von 29 Fällen fand sich eine Phagocytosesteigerung (maximal auf 185 %). Unter 75 % fielen 13, unter 66 % 5, unter 50 % 3 Fälle.

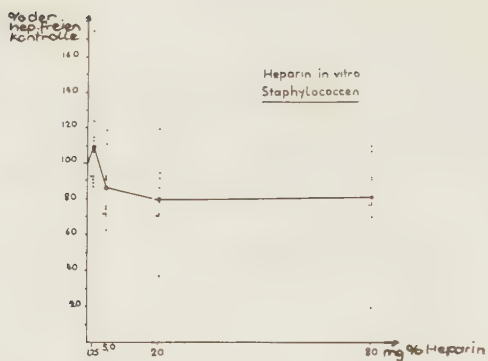


Abb. 18

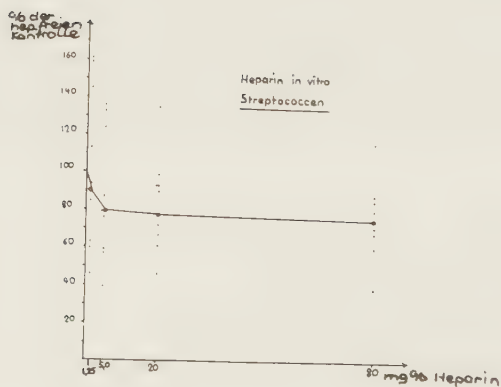


Abb. 19

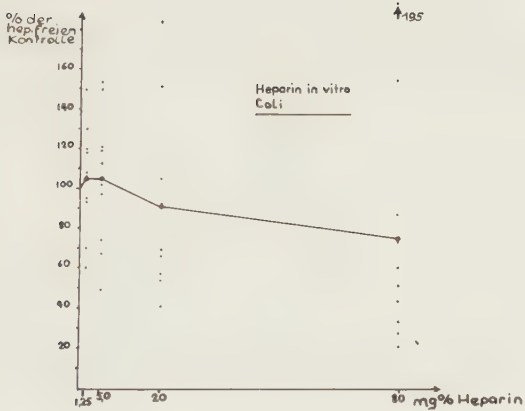


Abb. 20

Abb. 18 - 20 Leukocytenphagocytose in vitro unter Einfluss steigender Konzentrationen von Heparin geprüft an
Staphylococcus aureus (Abb. 18)
Streptococcus haemolyticus (Abb. 19)
Escherichia coli (Abb. 20)

Bei 80 mg% Heparin war die Phagocytose noch immer in 6 von 29 Fällen gesteigert. Unter 75 % sanken 12, unter 66 % 7, unter 50 % 6.

Erst bei einer Heparinkonzentration, die das 15-fache der therapeutisch erforderlichen beträgt, findet sich eine gewisse Phagocytosehemmung. Im Gegensatz zu den hohen Citratkonzentrationen betrifft dies nicht alle Fälle, sodass die arithmetische Durchschnittskurve nie unter 75 % fällt (vgl. hierzu Abb. 8-10 der Citratversuche).

Transfusionsversuche mit Heparin.

Wie mit Natriumcitrat war nun mit Heparin zu prüfen, ob das Verhalten in vivo den in vitro gewonnenen Resultaten entspricht.

a) Transfusion von 400 cc Blut enthaltend 8 mg Heparin.

Abb. 21.

In einer ersten Reihe wurde die Coliphagocytose vor und nach 5 Transfusionen von 400 cc frischem Konservenblut, enthaltend 1000 E = 8 mg Heparin geprüft. Dadurch entstehen Empfängerblutkonzentrationen bis 0,2 mg % Heparin. Die durchschnittliche Phagocytose betrug 100 %. In 2 Fällen ist eine bedeutende Hemmung der Phagocytose zu erkennen, im übrigen bleibt sie wenig beeinflusst. 5 Fällen leichter Steigerung stehen 5 leichter Hemmung gegenüber, wobei die Hemmung etwas ausgeprägter ist. Ein deutlicher Unterschied gegenüber den Citratbluttransfusionen ist nicht festzustellen. Die in vitro beobachtete Förderung der Phagocytose durch Heparin tritt nach Verabreichung von heparisiertem Blut in vivo nicht auf.

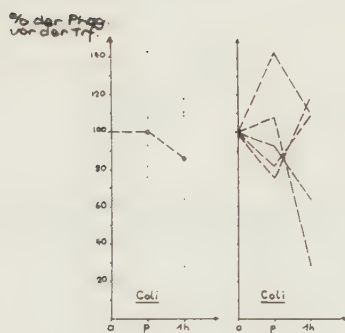


Abb. 21 Transfusion von 400 cc Blut enthaltend 1000 E = 8 mg Heparin. Phagocytose von E. coli Einzelresultate und Durchschnittskurve aus 5 Transfusionen.

b) Grosse Bluttransfusionen mit Citrat und Heparin

Abbildung 22-24

Wir führten mehrere grosse Transfusionen mit Citrat- bzw. Heparinblut bei Operationen durch und 2 Exanguinations-Transfusionen an Neugeborenen mit Erythroblastose. Wir sind uns bewusst, dass Narkose, Operation und der geschwächte Zustand des Patienten in diesen Fällen keine absolut vergleichbaren Versuchsbedingungen geschaffen haben (nach Hamburger 24 fördern z.B. niedrige Dosen von Narkotica die Phagocytoseaktivität der Leukocyten, höhere lähmen sie). Es besteht kein wesentlicher Unterschied zwischen den Resultaten nach sehr grossen Citrat- und denen nach sehr grossen Heparintransfusionen. Nach beiden kommt sowohl Hemmung als Steigerung der Phagocytose vor, ohne dass eine Regel dafür ersichtlich würde. Im Falle der Patientin R. auf Abb. 22 ist eine Beobachtung über die Wirkung der Narkose interessant. Es trat in Narkose (Stadium III) schon vor der Transfusion ein Abfall der Phagocytose von Staph. aur. und Streptoc. haemolyt. auf. Die Coliphagocytose stieg an.

Vergleicht man die beiden Kurven der Abb. 22, so ist in der ersten eine Tendenz nach abwärts, in der zweiten eine solche nach aufwärts zu erkennen: einem Fall von Hemmung steht also einer von Förderung der Phagocytose gegenüber. Dasselbe ist in den 2 Fällen der Abb. 23 zu beobachten, wo es sich um grosse Citratbluttransfusionen handelt, und weiter in 3 Fällen der Abb. 24, in denen praktisch die gesamte Blutmenge der Empfänger durch Citratblut ersetzt wurde.

Etwas Ähnliches war auch schon in den früher diskutierten 400 cc-Citrattransfusionen festgestellt worden. Uebereinstimmung fehlt nicht nur unter den verschiedenen Empfängern

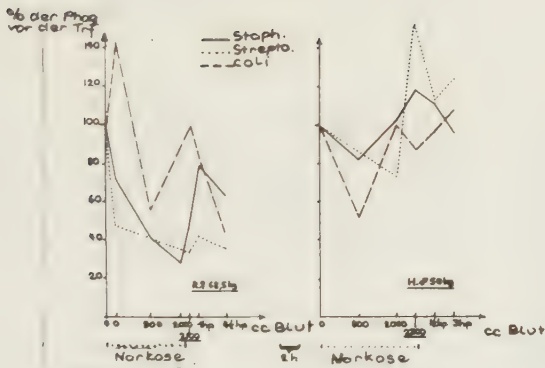


Abb. 22 zwei grosse Heparintransfusionen bei narkotisierten Patienten intra operationem. 2 mg Heparin/ 100 cc Blut. Phagocytose verfolgt bis $4\frac{1}{2}$ Stunden nach der Operation.
 R. : 2100 cc Blut innert $8\frac{1}{2}$ Stunden
 H. : 2300 cc Blut innert ca 8 Stunden.

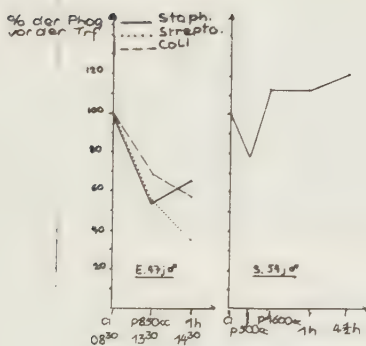


Abb. 23 zwei grosse Citratbluttransfusionen bei narkotisierten Patienten intra operationem. Rotkreuzkonservenblut.
 E. : 850 cc Blut innert 5 Stunden
 S. : 1600 cc Blut

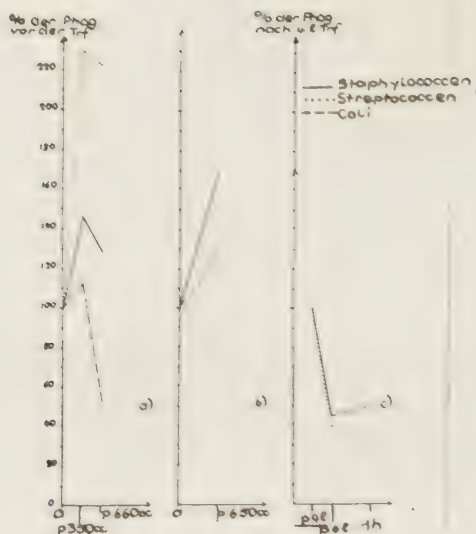


Abb. 24. Exsanguinationstransfusionen

- a) und b) bei Neugeborenen mit Erythroblastose:
 650 bzw. 660 cc Blut enthaltend 390 mg% Citrat.
 Transfusion innert 1 Stunde
- c) 6 Liter Rotkreuz-Citratblut bei einem Erwachsenen mit Leberruptur.
 Eine Phagozytosebestimmung vor der Transfusion war in diesem letzteren Falle nicht möglich, so wurde die Phagozytose nach 4 Litern Blut als 100 % gesetzt und diejenige nach 6 Litern dazu ins Verhältnis gebracht.

sondern auch unter den einzelnen Bakterienarten beim gleichen Empfänger, sodass man sich des Eindrucks einer gewissen Willkür nicht erwehren kann.

Beeinflussung der Leukocytenphagocytose durch die verschiedenen Serumfraktionen

Allgöwer und Süllmann (40) untersuchten die Wanderung der Leukocyten unter Einfluss der verschiedenen Serumfraktionen und fanden, dass isolierte gamma-Globuline praktisch die gleiche begünstigende Wirkung auf die Wanderung ausüben wie das Totalserum, während sämtliche übrigen Fraktionen die Leukocytenwanderung kaum beeinflussen. Wir prüften in mehreren Versuchen den Einfluss der verschiedenen Serumfraktionen auf die Phagocytose der Leukocyten (Abb. 25) Angaben über die Technik der Fraktionierung finden sich in der Arbeit von Allgöwer und Süllmann.

Von den einzelnen Fraktionen ergeben die gamma-Globuline die beste Phagocytose. Die Phagocytose im Totalserum ist aber (bei gleichem Eiweissgehalt) im Gegensatz zur Wanderung etwas besser. Die beste Wirkung fanden wir bei einem gamma-Globulingehalt zwischen 0,26 und 0,62%. Es ist interessant, dass diese Werte ungefähr dem Normalgehalt des Serums an gamma-Globulinen entsprechen, der nach Cohn ca 0,5-0,6 % beträgt (39).

In Abbildung 25 ist in Kolonnen die Phagocytose gewaschener polynukleärer Leukocyten in den verschiedenen Serumfraktionen und im Totalserum dargestellt.

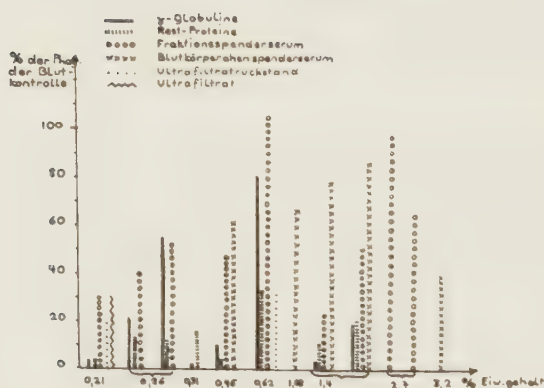


Abb. 25 Die Bakterienphagocytose der polymorphkernigen Leukozyten unter dem Einfluss der verschiedenen Serumfraktionen und in Abhängigkeit von deren Eiweißgehalt, verglichen mit der Phagocytose im Vollblut.

IV DISKUSSION

Zur Diskussion stehen folgende aus unseren Versuchen gewonnene Erkenntnisse:

1. Natriumcitrat hemmt die Leukocytenphagocytose in vitro in Abhängigkeit von seiner Konzentration im Blut.
2. Die in vitro schädlichen Natriumcitrat-Konzentrationen können nur durch grosse Bluttransfusionen im Empfängerblut erreicht werden.
3. Bei Transfusionen mit hohem Citratgehalt entspricht die Wirkung auf die Leukocytenphagocytose nicht den in vitro gefundenen Resultaten. Vielmehr tritt unabhängig vom Citratgehalt der Transfusion in vivo neben Abfall der Phagocytose in manchen Fällen keine Beeinflussung oder sogar eine Steigerung auf.
4. Die Phagocytose ist selbst bei Patienten, die Symptome von Calciummangel wie Frösteln, Kribbeln, Atembeklemmung etc. oder sogar Ungerinnbarkeit ihres Blutes als Zeichen noch bestehender Citratwirkung aufweisen, oft nicht herabgesetzt.
5. Heparin hemmt die Phagocytose in vitro selbst in hoher Konzentration kaum. In therapeutisch erreichten Dosen fördert es die Phagocytose.
6. In vivo verabreicht entspricht das Verhalten unter Heparin dem unter Natriumcitrat in vivo.
7. Unter den verschiedenen Serumfraktionen sind es die gamma-Globuline, die die Phagocytose fördern.

In vitro beeinflussen Heparin und Na-Citrat bei vergleichbarer Wirkung auf die Blutgerinnung die Phagocytose also im entgegengesetzten Sinne, während das Verhalten der Phagocytose nach Verabreichung von Heparin- oder Citratblut in vivo nicht vorauszusehen ist. Nach Citrat- wie nach Heparinbluttransfusion kann

sie sowohl gleich bleiben als sich verbessern oder verschlechtern. Diese Diskrepanz zwischen der Wirkung in vitro und in vivo deutet darauf hin, dass in vivo ein Mechanismus funktioniert, der dem Citrat- bzw. dem Heparineinfluss entgegenwirkt, wenn nicht die mannigfachen anderen Einflüsse, denen die Phagocytose nach einer Transfusion in vivo unterworfen sein mag, ihre Wirkung einfach überdecken. Ein wichtiger Faktor ist sicher der Citrat- bzw. Heparinabbau. Aus der Thrombosetherapie ist bekannt, dass Heparin im Körper mindestens 4 Stunden lang wirksam ist. Citrat wird bei normaler Leberfunktion rasch abgebaut, doch deuteten wie schon erwähnt Zeichen von Calciummangel und Ungerinnbarkeit des Blutes bei mehreren Patienten auf eine längere Citratwirkung. Der Abbau allein genügt also nicht als Erklärung.

Allgöwer und Süllmann (38) fanden die Wanderungsfähigkeit der Leukocyten von den gamma-Globulinen abhängig. Ähnliches fanden wir für die Phagocytose. In vitro genügen 10% Nativserum zur Wiederherstellung der durch Natriumcitrat gehemmten Wanderung (40). Eine ständige Neubildung von gamma-Globulinen im Organismus während der Bluttransfusion könnte erklären, warum die Phagocytosehemmung durch Citrat in vivo ausbleibt.

Allgemein waren Patienten in schlechtem Allgemeinzustand empfindlicher auf Citrat als solche in gutem Zustand. Auf eine eigentliche Toxicität des Citrat in Bezug auf die Phagocytose der neutrophilen Leukocyten in vivo darf daraus jedoch nicht geschlossen werden.

Die Citratkonserve hat gegenüber der Heparinkonserve zwei bedeutende praktische Vorteile: längere Haltbarkeit (über 2 Wochen gegenüber ca 24 Stunden) und niedrigeren Preis. Hingegen sind vom Citrat in grossen Dosen von der Phagocytose unabhängige toxische Wirkungen bekannt wie Blutdruckabfall, Kollaps, Tetanie, Herzversagen, sogar Exitus. Citrat ist schon in kleinen Dosen ein Herzgift (9, 17, 22,). Die eben erlaubte Citratdosis beträgt

nach Bunker et al. 5 mg/Kg./Min. Eichholtz (37) gibt als Maximalmenge 6 g Natriumcitrat an, allerdings ohne Zeitangabe. Unsere Patienten vertrugen bis 12 g Natriumcitrat innert 60 Min. ohne Herz- oder Kreislaufstörungen. Diese Dosierung erreicht nicht ganz die von Bunker angegebene Maximaldosis. Im Gegensatz dazu erreichen selbst grösste Heparinbluttransfusionen keine toxischen Heparindosen. Sie können das Empfängerblut vorübergehend ungerinnbar machen, doch kann diese Wirkung mit Protaminsulfat behoben werden.

Eine Contraindikation gegen Natriumcitrat als Stabilisator oder eine Indikation zu Gunsten des Heparins als Stabilisator für Blutkonserven lässt sich aus unseren Versuchen nicht ableiten.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde der Einfluss von tribasischem Natriumcitrat und von Heparin auf die Phagocytosetätigkeit menschlicher polynukleärer Leucocyten gegenüber *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus haemolyticus* und *Escherichia coli* geprüft. In vitro bewirkt Natriumcitrat in klinisch häufig angewandter Dosierung einen Abfall der Phagocytose, währenddem Heparin sie fördert. Von den verschiedenen Serumfraktionen scheinen die Gamma-Globuline für die Phagocytose besonders wichtig.

Nach Verabreichung von Citrat- bzw. Heparinblut in vivo sind beim Empfänger keine entsprechenden Unterschiede der Phagocytose festzustellen. Ein Teil der Empfänger reagiert mit Zunahme, ein anderer Teil mit Abnahme oder Konstanz der Phagocytose. Die Phagocytose der einzelnen Bakterienarten ist oft nicht gleichsinnig verändert. Die Untersuchungen über die phagocytäre Tätigkeit der Leucocyten nach Blutgaben mit erhöhtem Citratgehalt oder nach grossen Transfusionen mit dem üblichen Citrat-Konservenblut ergeben keine Hinweise darauf, dass die Veränderung der phagocytären Aktivität der Empfängerleucocyten nach der Transfusion mit dem zugeführten Citrat in Beziehung steht.

L i t e r a t u r

- 1 Wright A.E. "Studien über Immunisierung", Jena 1909
- 2 Hamburger H.J. Handb. biol. Arbeitsmeth. 1927
- 3 Unger L.J. JAMA 77, 2107, 1921
--- Ubl.ges.inn.Med. 23, 56, 1922
- 4 Karavanow, Kolmer, Hutten zit. n. Schürch
- 5 Schürch, Willenegger, Knoll Wien, Springer 1942
- 6 Rous, Turner, Meulengracht u.Gram, Hirschlaff, Sabrazès,
de Gowin zit. n. Schürch
- 7 Riddell "Blood Trf." Oxford med. Publ. 1939
- 8 Mayer A. Surgery 33, 79-82, 1952
- 9 Bunker J.P., Stetson J.B., Coe R.C., Grillo H.C., Murphy A.J.
JAMA 157, 1361-67, 1955
- 10 Stefanini M., Mednikoff J.B., Salomon L., Campbell E.W.
Clin. Res. Proc. 2, 61, 1954
--- Acta Scand.med. 136, 250-66
- 11 Bericht über Bestand und Tätigkeit der Spendezentren des
Schweiz. Roten Kreuzes im Jahre 1954
- 12 Freeman G. Science 114, 527, 1951
- 13 Surgenor D.M. Ext. 2. Congr. internat. Biochimie Paris 1952
p. 418
- 14 Tullix J.L. Harvard Univ. Acad. Press, New York 1953
- 15 Strumia M.M. Blood 9, 1105, 1954
- 16 Gibson J.G. New England M.J. 255, 976-980, 1954
- 17 Coockson B.A., Costas-Durieux J., Bailey C.P.
Ann.Surg. 139, 430-38, 1954

- 18 Allgöwer M., Reif W., Helvet. chir. acta 16, I, 75-82, 1949
- 19 Allgöwer M. Schweiz. med. Wchnschr. 77, Nr 1-2, 1947
- 20 Allen J.G., Clark D.E., Thornton T.F., Adams W.E.
Surgery 15, 824-831, 1944
- 21 Bruneau J., Graham E.A., Arch.Surg. 47, 319-325, 1943
- 22 Watkins E., Saunders Comp. 213-19, Philadelphia 1954
(Clin. Congr. Am. Surg.)
- 23 Wassner U.J. Zbl. Chir. 77, 319-513, 1952
- 24 Wexler I.B., Pincus J.B., Natelson S., Lugovoy J.K.
J.Clin.Invest. 28, 474-481, 1949
- 25 Mellone O., Yahn O. Arc.cir.clin. e exp. 12, 369-74, 1949
- 26 Allgöwer M. Helvet. chir. acta 14, VI, 1947
- 27 Delauney A., Pages J. Compt.rend.Soc.biol. CXXXIX, 557, 1945
- 28 Kiguchi N. Zbl. inn.Med. 82, 630, 1935
- 29 Allgöwer M., Bloch W., Schw.med. Wchnschr. 77, Nr.27-28, 1947
- 30 Grimberg A., Charreiff, Fellier Comt. rend. Soc. biol. 131,
699, 1939
- 31 Ehlerl H. Klin.Wchnschr. 1, 72, 1939
- 32 Jeanney zit. n. Schürch (5)
- 33 Bodarenko, Zaeva zit. n. Schürch (5)
- 34 Rigdon R.H., Wilson H. Arch. Surg. 43, 64-73, 1943
- 35 Jorpes J.E. Oxford Univ. Press, London 1946
- 36 Magerl J.F. Ztschr. Immunit. Forschung 101, 122, 1935

- 37 Hamburger H.J. Wiesbaden 1912
- 38 Eichholtz F. Lehrbuch der Pharmakologie, Berlin, Springer 1944
p. 395
- 39 Allgöwer M., Süllmann H., Experientia IV/ 3, 107, 1950
- 40 Cohn et al. J.Am.Chem. Soc. 72, 465, 1950
- 41 Allgöwer M., Experientia V/10 405, 1949

